

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## 8. 繁殖毒性および催奇形性

### (1) ラットを用いた2世代繁殖毒性試験

(毒性資料 No.18)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2008年

検体純度： %

供試動物：Wistar Han CrI: WI(HAN)系ラット、1群雌雄各30匹

投与開始時 約8週齢、体重；雄224.9～279.1g、雌145.6～203.3g

投与期間：P世代；投与開始からF<sub>1</sub>児離乳時までの約18週間

F<sub>1</sub>世代；離乳時からF<sub>2</sub>児離乳時までの約24週間

投与方法：検体を0(対照群)、40、220および1200ppmの濃度で飼料に混入し、その飼料をP世代には交配10週前から、F<sub>1</sub>世代には離乳時から摂食させた。但し、哺育期間中は摂餌量の顕著な増加に伴う検体摂取量の増加を防ぐため、何れの投与群とも混餌濃度を50%に減らした(それぞれ、0、20、110および600ppm)。

用量設定根拠；

交配手順：雌1匹と雄1匹を最高14日間連続して同居させることにより、交配を行った。交配期間中は、膣垢を毎朝採取し、精子および膣栓の有無を検査した。受精が判明した雌は、営巣ケージに移した。膣垢で受精が観察された日をその雌の妊娠0日目とした。14日間の交配期間終了後に残りの雌すべてをポリカーボネート製営巣ケージに移し、受精した可能性を確認した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

交配、調整、観察、検査項目：概要を次表にまとめた。

表 試験の概要

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育(10週)		・一般状態および生死の有無確認
	交配(2週)	雌雄1対1で交配。 受精を確認した日 を妊娠0日とした。	・体重、摂餌量(交配期間中を除く)検査 ・交配3週前より発情周期検査
	妊娠(約3週)		・妊娠0、6、13、20日目に体重、摂餌量測定
	出産		・全腹出産後、雄親動物を屠殺し、剖検、臓器重量測定、精子検査、血液検査、鏡検
	哺育(3週)	哺育4日目に各同腹 児数を雌雄各4匹に 調整	・哺育0、4、7、14および21日目に母動物体重および 摂餌量測定 ・新生児の生死、性別、外表異常検査、体重測定
	離乳	継代用の各群雌雄 を無作為に選抜	・全同腹児離乳後(哺育21日目)、母動物を屠殺、剖検、 臓器重量測定、血液検査、着床痕検査、鏡検 ・次世代親に選抜されなかった児動物の剖検、臓器重 量測定、鏡検
F <sub>1</sub>	生育(約6週)		・F <sub>1</sub> 親動物について膈開口、包皮分離観察
	生育(10週)		(P世代に準ずる)
	交配(2週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	妊娠(約3週)		(P世代に準ずる)
	出産		(P世代に準ずる)
F <sub>2</sub>	哺育(3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	離乳		・全同腹児離乳後(哺育21日目)、母動物を屠殺、剖検、 臓器重量測定、血液検査、着床痕検査、鏡検 ・児動物の剖検、臓器重量測定、鏡検

【親動物】

死亡率および一般状態観察：1日2回(休日は1日1回)、ケージ内の動物を観察することにより、死亡、病的状態、行動の変化、難産または遅産の徴候、ならびに明白な毒性影響を記述した。ケージ越しの評価中に一般状態の変化と思われるものが観察された場合には、動物をケージから出し、詳細な評価を行った。その他、少なくとも週1回、ケージから出しての身体検査を含む詳細な検査を実施した。

体重および摂餌量：10週間の交配前期間中は雌雄とも週1回体重および摂餌量を測定した。交配から屠殺までの期間中は、雄および未交配の雌の体重を週1回測定した。交配期間中の摂餌量の測定は行わなかった。妊娠期間中は、0、6、13および20日目に母動物の体重を測定し、週1回摂餌量の測定を行った。哺育期間中は、0、4、7、14および21日目に母動物の体重を測定し、また、0~4日、4~7日、7~14日および14~21日の摂餌量を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

発情周期：すべてのP世代およびF<sub>1</sub>世代の雌の発情周期を交配前の3週間、膣垢を毎日調べることにより検査した。さらに、最終屠殺直前にすべての雌について発情周期の段階を調べた。

精子パラメータ：最終屠殺時に、P世代およびF<sub>1</sub>親世代のすべての雄について、片側の精巣および精巣上体から精子を採取し、それぞれ、均質化抵抗性精子細胞数および精巣上体尾精子貯蔵数を計数した。また、輸精管の遠位部分(尿道に最も近い位置)から採取した精子について、形態および運動性を評価した。形態評価および精子数の計数は、対照群および1200ppm群について行った。

血液検査：全群の親動物雌雄10匹ずつについて屠殺前に一晩絶食させ、イソフルラン吸入によって麻酔をかけ、毛細管を用いて眼窩洞から血液試料を採取し、以下の項目を検査した。

血液学的検査；ヘマトクリット値(Ht)、血色素量(Hb)、赤血球数(RBC)、赤血球指数(MCV、MCH、MCHC)、赤血球分布幅(RDW)、白血球百分率、白血球総数(WBC)、赤血球形態、総血小板数(PLT)、ヘモグロビン分布幅(HDW)

血液生化学的検査；アルブミン(ALB)、グロブリン(GLOB)、A/G比(A/G)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、アルカリホスファターゼ(AP)、総蛋白(TPRO)、総ビリルビン(TBIL)、グルコース(GLUC)、総コレステロール(CHOL)、トリグリセリド(TRIG)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(CREA)、ナトリウム(NA)、カリウム(K)、塩素(CL)、カルシウム(CA)、無機リン(PHOS)、クレアチンホスホキナーゼ(CPK)

剖検：雄ラットは、最後の同腹児が出生した後に、生存しているすべての親動物を二酸化炭素窒息により屠殺し、肉眼による外表検査、最終体重の測定、肉眼的病理検査、臓器重量の測定を行い、すべての肉眼的病変部位を保存した。最終屠殺時にすべての雄を対象に、上述の精子パラメータの検査を行った。

各母動物(P世代およびF<sub>1</sub>世代)は、同腹児が離乳した後(哺育21日目)に二酸化炭素窒息により屠殺し、肉眼による外表検査、最終体重の測定、肉眼的病理検査、臓器重量の測定を行い、すべての肉眼的病変部位を保存した。子宮を切開し、着床痕を数えた。

精子または膣栓が確認されたが出産しなかった雌は、妊娠24日後に屠殺した。受精または膣栓が確認されず、交配期間の終了から少なくとも24日後に出産しなかった雌は、屠殺し剖検した。また、10%緩衝ホルマリンで子宮角のフラッシングを行い、これらの雌における子宮頸部/子宮口の開口を調べた。

以下の組織を採取し、重量を測定した。

脳、下垂体、肝臓、腎臓、脾臓、甲状腺、胸腺、副腎、子宮頸部、精巣上体、凝固腺、卵巣、輸卵管、前立腺、精囊、精巣、子宮、膣

以下の組織について病理組織学的検査を実施した。

下垂体、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、子宮頸部、精巣上体、凝固腺、卵巣、輸卵管、前立腺、精囊、精巣、子宮、膣

試験中に瀕死状態で発見された動物は屠殺し、肉眼的剖検を行った。死亡している状態で発見された動物はできる限り速やかに剖検に供した。死亡または切迫屠殺した児動物は、肉眼的剖検によって異常を調べ、死因を決定した。

### 【児動物】

生存・死亡動物数、体重、外部異常、性別、性成熟：哺育期間中および離乳後に以下の項目について調査した。

生存児動物数ならびに死亡児動物数(哺育0～21日)、体重(哺育0、4<sup>a</sup>、7、14、21日目)、外部異常(哺育0、4<sup>a</sup>、7、14、21日目)、性別(哺育0日目)、包皮分離(離乳後)、臆開口(離乳後) (a：児動物数調整前)

調整(間引き)：各同腹児ができる限り雌雄各4匹となるように、哺育4日目に各同腹児の数を調整した。雄または雌の児動物の数が4匹未満の場合には、部分的な調整を行い(たとえば、雌3匹と雄5匹)、児動物の数が8匹未満の同腹児については、調整を行わなかった。調整は、SASから提供されたソフトウェアを用いて、児動物を無作為に選抜する方法で行った。

剖検：哺育4日目に間引きされなかったF<sub>1</sub>およびF<sub>2</sub>世代の児動物は、哺育21日目に離乳させるまで飼育した。F<sub>1</sub>児哺育21日目に、各同腹児の雌雄ごとに、次の世代を得るのに十分な数のF<sub>1</sub>児を選抜した。次世代の親に選ばれなかったF<sub>1</sub>児およびすべてのF<sub>2</sub>児は屠殺し、肉眼での検査を行い、以下の臓器重量を測定した。

脳、脾臓、胸腺、子宮

各世代について、各同腹児の雌雄それぞれ1匹から、以下の生殖系臓器を採取し、構造的異常または病理学的変化について評価した。

子宮、卵巣、臆、子宮頸部、輸卵管、精巣、精巣上部、前立腺、凝固腺、精囊

死亡した児動物は外表および内部の異常を肉眼で調べ、死産児または死亡している状態で発見された児動物については、考えられる死因を決定した。

繁殖に関する指標：交配および分娩記録から、以下の繁殖に関する指標を計算した。

$$\text{交尾率(\%)} = \frac{\text{受精した雌の数}^a}{\text{同居させた雌の数}} \times 100$$

$$\text{受胎率(\%)} = \frac{\text{妊娠した雌の数}^b}{\text{受精した雌の数}} \times 100$$

$$\text{出産率(\%)} = \frac{\text{生存児を出産した雌の数}}{\text{妊娠した雌の数}} \times 100$$

<sup>a</sup> 精子もしくは臆栓が確認されなかったが妊娠した雌を含む。

<sup>b</sup> 出産しなかったが着床痕が確認された雌を含む。

出生児の生存指標：同腹児の哺育記録から、以下の生存指標を計算した。

$$\text{出生率(\%)} = \frac{\text{同腹児あたりの出生児数}}{\text{同腹児あたりの着床痕数}} \times 100$$

$$\text{生児出生率(\%)} = \frac{\text{同腹児あたりの生存児数}}{\text{同腹児あたりの出生児数}} \times 100$$

$$\text{生存率(\%)} = \frac{\text{4日目(調整前)の同腹児あたりの生存児数}}{\text{同腹児あたりの生存児数}} \times 100$$

$$\text{離乳率(\%)} = \frac{\text{21日目の同腹児あたりの生存児数}}{\text{4日目(調整後)の同腹児あたりの生存児数}} \times 100$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果：概要を後頁の表に示す。

#### 【親動物】

死亡および一般状態：投与に関連した死亡および一般状態の変化は認められなかった。

体重および摂餌量：

##### 雄

P世代、F<sub>1</sub>世代とも、何れの投与群においても体重および摂餌量に投与の影響は認められなかった。なお、F<sub>1</sub>世代の摂餌量に関して、220ppm群においては統計学的に有意な低値が、一方1200ppm群では統計学的に有意な高値が散見されたが、いずれも僅かな変動であり毒性影響とは考えられなかった。

##### 雌(交配前)

P世代の1200ppm群において体重が対照群に対しわずかに減少し、63日目には統計学的有意差が認められた。また、対照群に比べて体重増加量が20%低下した。摂餌量に対する影響は認められなかった。1200ppm群において、56日目から63日目までの動物当たりの摂餌量が対照群に対し有意に低下したが、一時的で僅かな変動であることから偶発的変動と考えられた。

F<sub>1</sub>世代の1200ppm群で対照群と比較して体重増加量の低下傾向が認められた。摂餌量に対する影響は認められなかった。1200ppm群において、56日目から63日目までの動物当たりの摂餌量が対照群に対し有意に低下したが、一時的で僅かな変動であることから偶発的変動と考えられた。

##### 雌(妊娠期間)

P世代の1200ppm群で、妊娠0～13日目に対照群と比較して統計学的に有意な体重の低値がみられた。摂餌量については投与の影響は認められなかった。

F<sub>1</sub>世代の1200ppm群で体重増加量の有意な上昇が観察された。これに関連して同群で動物当たりおよび体重当たりの摂餌量が対照群に比べ増加した(統計学的有意差はなし)。(申請者による考察：F<sub>1</sub>世代の1200ppm群で認められた体重増加量の有意な変化は、減少ではなく増加であること、また、交配前期間に認められた体重増加量の低下傾向に対する代償性の増加と考えられることから毒性影響とは判断しない。また、同群の摂餌量の増加についても、毒性影響と判断しなかった体重増加量の増加に伴ったものであることから、毒性影響とは判断しない。)

##### 雌(哺育期間)

P世代の1200ppm群において、哺育0日目に対照群と比較して統計学的に有意な体重の低値が観察されたが、その後は有意差は見られなかった。摂餌量への影響は認められなかった。

F<sub>1</sub>世代については体重、摂餌量に対する影響は何れの投与群でも認められなかった。

検体摂取量：摂餌量、体重の測定結果および飼料の分析結果に基づき、交配前期間中(10週間)の平均検体摂取量を求めた。

表 平均検体摂取量(mg/kg/day)

性	雄			雌		
	用量(ppm)	40	220	1200	40	220
P	2.7	15.1	83.1	3.2	17.6	96.3
F <sub>1</sub>	2.6	13.9	82.4	3.1	16.8	95.6

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

発情周期：何れの世代、用量においても発情周期に投与の影響は認められなかった。

精子の測定：何れの世代、用量においても評価した精子パラメータに投与の影響は認められなかった。

雌の繁殖能力：いずれの世代、投与群においても交尾率、受胎率、出産率、交尾までの日数、妊娠期間ならびに着床数等の繁殖パラメータに影響は認められなかった。

血液学的検査：

P 世代の 1200ppm 群雌でヘモグロビンおよびヘマトクリットの減少が認められた。

F<sub>1</sub> 世代の 1200ppm 群雌で総白血球数ならびに単球絶対数の増加およびヘモグロビンの減少が認められた。

他に認められた統計学的に有意な変化は、軽微な変化であるか、用量との関連性が認められないため、毒性影響とは考えられなかった。

血液生化学的検査：

P 世代の 1200ppm 群雄でクレアチニン、総タンパクおよびアルブミンの上昇が認められた。

F<sub>1</sub> 世代の 1200ppm 群雄で尿素窒素および総タンパクの上昇が、同群雌で総コレステロールの上昇が認められた。

クレアチンホスホキナーゼの有意な低下が、P 世代の 1200ppm 雄および F<sub>1</sub> 世代の 1200ppm 雌でそれぞれ認められたが、いずれも背景対照データの範囲内（測定値はそれぞれ 85、101U/L、背景対照データ範囲はそれぞれ 57～532、50～488U/L）であったため、投与の影響とは考えられなかった。その他に認められた統計学的に有意な変化は、軽微な変化であるか、用量との関連性が認められないため、毒性影響とは考えられなかった。

最終体重および最終臓器重量：

P 世代親動物の最終体重には雌雄とも投与による影響は認められなかった。1200ppm 群雌雄で肝臓重量(実重量および対体重比)の増加、同群雄で腎臓重量(実重量および対体重比)の増加が認められた。同群雌で脾臓の実重量の減少が認められたが、この減少については、病理組織学的所見もしくは血液学的変化を伴わなかったため、毒性影響であるとは考えられなかった。

F<sub>1</sub> 世代親動物の最終体重には雌雄とも投与による影響は認められなかった。1200ppm 群雌雄で肝臓重量(実重量および対体重比)の増加、同群雄で腎臓重量(実重量および対体重比)の増加が認められた。同群雌では脾臓重量(実重量および対体重比)が減少し、220ppm 群雌でも脾臓重量(対体重比)が対照群と比較して減少したが、220ppm 群では実重量に統計学的有意差はなく、また同群の最終体重が比較的高かった影響の可能性が考えられることから、220ppm 群でみられた脾臓重量(対体重比)の減少は投与の影響とは判断しなかった。更に、1200ppm 群における変化も含め雌の脾臓重量の減少は、この所見を裏付ける病理組織学的所見あるいは血液学的変化を伴わなかったため、毒性学的な意義の低い変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

他にも統計学的に有意な変化が散見されたが、軽微な変化である、用量との関連性がない、世代間で一貫性がない、病理組織学的変化を伴わない等の理由から投与の影響とは考えられなかった。

**剖検：**

肉眼的病理検査；何れの世代、投与群とも投与による変化は認められなかった。

病理組織学的検査；PおよびF<sub>1</sub>世代の1200ppm群雄で腎臓のタンパク滴腎症とリンパ球浸潤の発生頻度が増加し、同群雌雄で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度が増加した。

F<sub>1</sub>世代の1200ppm群雌雄で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度が増加し、同群雌で肺の肺胞マクロファージの出現頻度が増加した。

F<sub>1</sub>世代雌の卵胞数；F<sub>1</sub>世代雌の原始卵胞数、卵胞腔数および黄体数に関して、対照群と投与群間に差は認められなかった。

**【児動物】**

生存率および一般状態；何れの世代、性においても児動物の生存率および一般状態に対する投与の影響は認められなかった。

体重；F<sub>1</sub>児の出生時体重に投与の影響は認められなかった。1200ppm群で哺育期間7～14日目の増体重が対照群に比べ減少し、雄では統計学的有意差が認められた。F<sub>2</sub>児の出生時体重に投与の影響は認められなかった。1200ppm群の増体重は哺育期間を通じて対照群より減少し、哺育21日目の体重は対照群に比べ統計学的に有意に減少した。

性的成熟；1200ppm群のF<sub>1</sub>雄の包皮分離が対照群に比べわずかに遅延した(平均42.5日)。この変化は統計学的に有意ではあるが、分離日数は本試験施設の背景対照データの範囲内(40.7～44.0日)であり、哺育期間中に観察された雄の増体重抑制の二次的影響であると考えられる。

F<sub>1</sub>雌の膈開口に対する影響は認められなかった。

F<sub>2</sub>児については、哺育0日目に肛門生殖突起間距離の測定を行った。雌雄とも哺育0日目におけるF<sub>2</sub>児の肛門生殖突起間距離に投与の影響は認められなかった。

臓器重量；F<sub>1</sub>児雌雄の臓器重量に投与による影響は認められなかった。

F<sub>2</sub>児では、1200ppm群(雄、雌および/または雌雄合計)で脾臓および胸腺の重量(実重量ないし対体重比)が減少した。同群雄で脳の対体重比が対照群と比較して統計学的に有意に増加したが、この変化はわずかであり同群における哺育21日目の低体重を反映したものと考えられ、投与の直接的影響とは考えられなかった。また、40ppm群雌で胸腺の対体重比が統計学的有意差を伴ってわずかに減少したが、220ppm群では認められておらず偶発的変動と考えられた。

剖検；肉眼的病理検査、病理組織学的検査において、いずれの世代、雌雄とも検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本試験において認められた毒性影響を以下に要約する。

用量	親：P、児：F <sub>1</sub>		親：F <sub>1</sub> 、児：F <sub>2</sub>		
	雄	雌	雄	雌	
親動物	1200ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>CREA、TPRO、ALB 増加</li> <li>肝臓、腎臓重量(実重量、対体重比)増加</li> <li>腎臓リンパ球浸潤、タンパク滴腎症</li> <li>肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>低体重、増体重抑制</li> <li>Hb、Ht 減少</li> <li>肝臓重量(実重量、対体重比)増加</li> <li>肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>BUN、TPRO 増加</li> <li>肝臓、腎臓重量(実重量、対体重比)増加</li> <li>腎臓リンパ球浸潤、タンパク滴腎症</li> <li>肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>増体重抑制</li> <li>CHOL 増加</li> <li>WBC、単核増加</li> <li>Hb 減少</li> <li>肝臓重量(実重量、対体重比)増加</li> <li>脾臓重量(実重量、対体重比)減少</li> <li>肝細胞肥大</li> <li>肺胞マクロファージ</li> </ul>
	220ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし
児動物	1200ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>増体重抑制</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>増体重抑制</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>低体重、増体重抑制</li> <li>胸腺、脾臓実重量減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>低体重、増体重抑制</li> <li>胸腺、脾臓重量(実重量、対体重比)減少</li> </ul>
	220ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし

以上より、親動物および児動物に対するNOAELはいずれも 220ppm (P世代親およびF<sub>1</sub>世代児動物:雄 15.1mg/kg/day、雌 17.6mg/kg/day、F<sub>1</sub>世代親およびF<sub>2</sub>世代児動物:雄 13.9mg/kg/day、雌 16.8mg/kg/day)と判断された。

繁殖性に対する影響は認められなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表：結果の概要

1. 親動物

世代		親：P				親：F <sub>1</sub>				
用量 (ppm)		0	40	220	1200	0	40	220	1200	
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30	
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30	
死亡数	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	
	雌	0	0	0	0	0	0	0	0	
体重 (g)	雄	15 週目 <sup>a</sup>	444.5	456.2	458.6	448.4	462.0	451.9	465.6	456.5
	雌 (交配前)	9 週目	245.4	237.6	237.6	232.0**	234.1	239.6	240.9	227.5
		10 週目	244.9	237.6	241.0	234.2	237.5	244.1	244.5	230.6
	雌 (妊娠期間)	0 日目	247.4	239.3	243.1	232.7**	240.2	247.5	241.5	231.2
		6 日目	263.8	254.8	261.5	248.5**	253.3	261.3	256.2	249.4
		13 日目	286.0	276.9	283.8	272.6**	270.8	279.6	273.4	269.7
	雌 (哺育期間)	20 日目	349.7	333.6	343.7	336.1	329.3	338.3	326.8	332.1
		0 日目	267.9	264.2	270.3	255.8*	257.7	266.8	260.6	258.5
		4 日目	276.5	266.2	276.8	267.2	263.0	274.4	271.4	263.0
		7 日目	282.7	273.9	284.7	273.1	273.3	282.6	279.9	271.3
		14 日目	299.3	290.7	299.9	289.0	293.5	297.5	296.8	291.3
		21 日目	287.5	280.4	286.7	277.9	286.4	290.6	293.3	284.5
増体重 (g)	雄	1-15 週目 <sup>b</sup>	196.3	210.9	207.1	195.8	193.7	186.5	191.5	189.2
	雌 (交配前)	1-10 週目	72.9	64.1	66.8	58.3	62.4	66.7	61.3	56.3
	雌 (妊娠期間)	0-20 日目	102.3	94.4	100.6	103.4	89.1	90.8	85.3	100.9*
摂餌量 (g/動物/day)	雄(交配前 ~剖検)	1-10 週目	23.3	23.8	23.5	23.5	23.1	22.7	22.8	23.8
	雌 (交配前)	1-10 週目	17.2	16.9	16.9	16.8	16.2	16.8	16.4	15.8
	雌 (妊娠期間)	0-20 日目	20.0	20.1	20.0	20.0	18.6	18.4	17.2	19.6
	雌 (哺育期間)	0-21 日目	45.6	42.8	43.5	44.1	45.8	46.3	45.1	46.2
摂餌量 (g/kg/day)	雄(交配前 ~剖検)	1-10 週目	68.8	70.2	68.4	69.6	64.2	64.4	62.2	66.2
	雌 (交配前)	1-10 週目	80.8	80.5	80.0	80.7	77.1	78.6	75.4	76.8
	雌 (妊娠期間)	0-20 日目	75.3	78.0	75.8	79.6	73.0	70.2	66.9	78.4
	雌 (哺育期間)	0-21 日目	161.1	155.5	152.6	161.4	166.5	163.4	161.5	168.7
平均検体摂取量 (交配前期間) (mg/kg/day)	雄	0	2.7	15.1	83.1	0	2.6	13.9	82.4	
	雌	0	3.2	17.6	96.3	0	3.1	16.8	95.6	

a : P世代は 15 週目、F<sub>1</sub>世代は 14 週目

b : P世代は 1-15 週目、F<sub>1</sub>世代は 1-14 週目

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Dunnnett's test)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

1. 親動物 (続き)

世代		親 : P				親 : F <sub>1</sub>				
用量 (ppm)		0	40	220	1200	0	40	220	1200	
発情周期		投与の影響認められず								
雄	精子運動性	運動率(%)	89.8	89.5	89.8	89.9	87.8	86.4	87.0	87.2
		前進率(%)	64.0	62.7	64.6	63.3	60.4	61.1	61.8	61.9
	精子数 (精子/g)	精巢	38.17			34.92	28.3			29.1
		精巢上体	240.5			219.7	189.4			161.9
	精子形態	正常	198.7			197.3	197.0			195.3
		異常	0.9			2.0	2.0			4.2
頭部分離		0.3			0.8	1.0			0.5	
雌	同居させた対数	30	30	30	30	30	30	30	30	
	交尾の認められた雌数	30	29	30	28	29	30	30	30	
	出産の認められた雌数	30	25	28	26	27	27	27	28	
	着床の認められた雌数	30	25	29	26	27	27	27	29	
	交尾率(%)	100.0	96.7	100.0	93.3	96.7	100.0	100.0	100.0	
	受胎率(%)	100.0	86.2	96.7	92.9	93.1	90.0	90.0	96.7	
	出産率(%)	100.0	100.0	96.6	100.0	100.0	100.0	100.0	96.6	
	交尾までの平均日数	3.0	2.4	2.7	2.3	2.9	3.0	2.3	2.8	
	妊娠期間(日)	21.9	21.8	21.8	21.8	21.8	21.7	21.6	21.5	
血液学的検査 <sup>a</sup>	雄	MCV			104*					
		MCH			104*					
		HDW				117*			110*	
		単球(%)		74*		74*				
		赤血球色調多様	(0)			(1*)	(1)		(2*)	
		高色素血					(0)		(1*)	
	雌	WBC							119*	
		Hb				93*			97*	
		Ht				92*				
		HDW				106*			107*	
		単球数							140*	
		大型非染色球数					(0.05)		(0.08*)	
血液生化学的検査 <sup>a</sup>	雄	CL			98*				97*	
		BUN					114*		121*	
		GLUC					115*			
		CREA				112*				
		CPK				40 <sup>+</sup>				
		TBIL	(0.2)	(0.1*)	(0.1*)	(0.1*)				
		TPRO				106*			104*	
		ALB				108*				
	A/G		104*							
	雌	CHOL							122 <sup>+</sup>	
CPK								37 <sup>+</sup>		
	CA		104*							

空欄は該当または有意差なし

a : 対照群に対する割合(%). ただし、赤血球色調多様および高色素血はグレード(1:軽度、2:中程度、3:重度)、大型非染色球数は測定値 (単位 ×1000/mm<sup>3</sup>)、TBILは測定値 (単位 mg/dL)をそれぞれ括弧内に示す。

\* : p<0.05 (Dunnett's test)

+ : p<0.05 (Mann-Whitney U-test)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

1. 親動物 (続き)

世代		親 : P				親 : F <sub>1</sub>				
用量 (ppm)		0	40	220	1200	0	40	220	1200	
臓器重量 <sup>a</sup>	雄	最終体重(g)	452.1	461.3	463.4	454.5	469.2	458.8	473.3	464.8
		肝臓(実重量)				122 <sup>+</sup>				127 <sup>*</sup>
		肝臓(対体重比)				122 <sup>+</sup>				128 <sup>*</sup>
		胸腺(実重量)								86 <sup>*</sup>
		胸腺(対体重比)								87 <sup>*</sup>
		甲状腺/右(実重量)				113 <sup>*</sup>				
		甲状腺/右(対体重比)				133 <sup>*</sup>				
		腎臓/左(実重量)				120 <sup>*</sup>				122 <sup>*</sup>
		腎臓/左(対体重比)				119 <sup>*</sup>				123 <sup>*</sup>
		腎臓/右(実重量)				123 <sup>*</sup>				124 <sup>*</sup>
		腎臓/右(対体重比)				122 <sup>*</sup>				125 <sup>*</sup>
		雌	最終体重(g)	278.9	268.9	278.5	266.0	272.2	274.1	280.0
	脳(実重量)							98 <sup>*</sup>		96 <sup>*</sup>
	肝臓(実重量)			91 <sup>*</sup>		110 <sup>*</sup>				117 <sup>*</sup>
	肝臓(対体重比)					116 <sup>*</sup>				117 <sup>+</sup>
	脾臓(実重量)					88 <sup>*</sup>				86 <sup>*</sup>
	脾臓(対体重比)							90 <sup>*</sup>		86 <sup>*</sup>
	胸腺(実重量)					91 <sup>+</sup>				
	甲状腺/左(実重量)					93 <sup>+</sup>				
	甲状腺/左(対体重比)					101 <sup>+</sup>				117 <sup>*</sup>
	甲状腺/右(対体重比)					125 <sup>+</sup>				
	腎臓/左(実重量)			93 <sup>+</sup>						
	腎臓/右(実重量)			93 <sup>*</sup>						
	卵巣/右(実重量)				144 <sup>+</sup>	114 <sup>+</sup>				
	卵巣/右(対体重比)			117 <sup>+</sup>	144 <sup>+</sup>	117 <sup>+</sup>				
	子宮(対体重比)		127 <sup>+</sup>		118 <sup>+</sup>					
肉眼的病理検査		投与の影響認められず								
病理組織学的検査	雄	腎臓 : リンパ球浸潤	0/30		0/30	18/30 <sup>#</sup>	3/30		2/30	11/30 <sup>#</sup>
		腎臓 : タンパク滴腎症	0/30		0/30	30/30 <sup>#</sup>	0/30		0/30	29/30 <sup>#</sup>
		肝臓 : 肝細胞肥大	0/30		0/30	29/30 <sup>#</sup>	0/30		0/30	30/30 <sup>#</sup>
	雌	肝臓 : 肝細胞肥大	0/30		0/30	13/30 <sup>#</sup>	0/30		0/30	7/30 <sup>#</sup>
		肺 : 肺胞マクロファージ					0/30			7/30 <sup>#</sup>
卵胞	原始卵胞数					125.3			119.5	
	卵胞腔					28.0			31.5	
	黄体数					42.9			38.6	

空欄は該当なしまたは有意差なし

a : 最終体重以外は対照群に対する割合(%)

\* : p<0.05 (Dunnnett's test)

+ : p<0.05 (Mann-Whitney U-test)

# : p<0.05 (Fisher's exact test)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2. 児動物

世代		児 : F <sub>1</sub>				児 : F <sub>2</sub>					
用量 (ppm)		0	40	220	1200	0	40	220	1200		
同腹児 パラメータ	総着床痕数(平均)	377 (12.6)	274 (11.0)	323 (11.1)	304 (11.7)	301 (11.1)	311 (11.5)	297 (11.0)	323 (11.1)		
	総出産数	354	257	303	295	287	299	289	303		
	死産数	1	1	0	1	4	0	1	3		
	性別比 0日目 (雄の比率)	53.2	54.0	46.0	44.6	47.4	49.7	49.1	44.1		
	平均同腹児数	11.8	10.3	10.8	11.3	10.6	11.1	10.7	10.8		
	出生率	93.9	91.8	89.6	96.8	95.0	96.3	97.1	91.0		
	生児出生率	99.7	99.7	100.0	99.7	98.7	100.0	99.7	99.2		
	生存率	99.7	96.0	99.3	97.8	99.6	98.2	98.1	98.3		
	離乳率	98.8	99.5	99.6	99.5	98.6	94.9	98.8	99.6		
体重 (g)	雄 + 雌	哺育0日目	5.9	5.9	6.0	5.9	6.0	5.8	5.8	5.7	
		哺育4日目(調整前)	9.7	9.3	9.8	9.5	9.8	9.6	9.4	9.2	
		哺育4日目(調整後)	9.7	9.3	9.8	9.5	9.8	9.6	9.4	9.2	
		哺育7日目	15.6	14.9	15.5	15.2	15.6	15.2	15.0	14.5	
		哺育14日目	32.1	30.9	31.8	30.6	31.8	31.0	30.8	29.6	
		哺育21日目	49.1	47.2	48.8	46.8	49.2	48.7	46.9	45.2*	
	雄	哺育0日目	6.1	6.0	6.1	6.0	6.2	6.0	5.9	5.9	
		哺育4日目(調整前)	9.9	9.6	10.0	9.7	10.0	9.8	9.6	9.4	
		哺育4日目(調整後)	10.0	9.6	10.1	9.7	10.0	9.8	9.6	9.4	
		哺育7日目	16.0	15.4	15.9	15.5	16.0	15.5	15.2	14.8	
		哺育14日目	32.7	32.0	32.3	31.0	32.3	31.4	31.1	30.1	
		哺育21日目	50.2	49.0	49.7	47.6	50.3	49.6	47.8	46.1**	
	雌	哺育0日目	5.8	5.6	5.8	5.7	5.8	5.6	5.6	5.6	
		哺育4日目(調整前)	9.5	9.0	9.7	9.4	9.6	9.3	9.0	9.1	
		哺育4日目(調整後)	9.5	9.0	9.7	9.3	9.6	9.3	9.0	9.1	
		哺育7日目	15.3	14.4	15.2	14.9	15.4	14.9	14.7	14.3	
		哺育14日目	31.5	30.2	31.4	30.2	31.4	30.6	30.3	29.4	
		哺育21日目	48.0	46.0	48.2	45.9	48.2	47.8	45.6	44.6*	
	増体重 (g)	雄 + 雌	哺育0-21日目	43.2	41.4	42.9	40.9	43.2	42.9	41.1	39.5*
			哺育4-21日目					39.4	39.1	37.5	36.1*
			哺育14-21日目					17.3	17.0	16.1	15.6*
		雄	哺育7-14日目	16.7	16.6	16.4	15.4**				
			哺育4-21日目					40.2	39.7	38.2	36.7**
			哺育14-21日目					18.0	17.5	16.7	16.0**
雌		哺育7-14日目	16.2	15.8	16.1	15.2					
		哺育4-21日目					38.6	38.5	36.5	35.5*	
		哺育14-21日目					16.8	16.5	15.4	15.3*	
性成熟	包皮分離日数	41.0	41.8	41.5	42.5**						
	膣開口日数	34.8	36.1	34.4	34.7						
	肛門生殖突起 間距離(mm)	雄					3.4	3.4	3.3	3.5	
		雌					1.7	1.7	1.7	1.7	

空欄は該当または有意差なし

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Dunnett's test)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2. 児動物(続き)

世代		児 : F <sub>1</sub>				児 : F <sub>2</sub>			
用量 (ppm)		0	40	220	1200	0	40	220	1200
臓器重量	雄+雌	胸腺(実重量)							84**
		胸腺(対体重比)							91**
		脾臓(実重量)							86**
	雄	脳(対体重比)							107*
		胸腺(実重量)							86**
		脾臓(実重量)							88*
	雌	胸腺(実重量)							83**
		胸腺(対体重比)						93*	90**
		脾臓(実重量)							84**
		脾臓(対体重比)							91*
肉眼的病理検査		投与の影響は認められず							
病理組織学的検査		投与の影響は認められず							

空欄は該当または有意差なし

a : 対照群に対する割合(%)

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Dunnett's test)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(2) ラットを用いた催奇形性試験

(毒性資料 No.19)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2008年

検体純度： %

供試動物： Sprague-Dawley (CrI:CD(SD))系妊娠雌ラット、1群当たり23匹  
交尾確認日の体重246～301g

投与期間： 妊娠6日から20日の15日間 (精子が確認された日を妊娠0日とした)  
(2006年1月10日～2月8日)

投与方法： 検体を0.5%メチルセルロース400水溶液に懸濁させ、0、30、150および450mg/kg/dayの用量で、投与期間中毎日1回10mL/kgの投与容量で強制経口投与した。

用量設定根拠；

観察・検査項目：

母動物； 全ての動物について妊娠0日から21日まで毎日一般症状を観察した。死亡、瀕死状態および流産については1日2回(週末および休日は1回)観察した。妊娠0、6、8、10、12、14、16、18および21日目の体重、妊娠1～6、6～8、8～10、10～12、12～14、14～16、16～18および18～21日目の摂餌量を測定した。

妊娠21日目に二酸化炭素吸入により全ての母動物を屠殺・剖検し、妊娠している雌について肝臓重量を測定した。また、全ての雌の肝臓を採取し、病理組織学的検査に供した。

妊娠子宮重量を測定し、以下の着床所見を記録した。

- ・ 黄体数
- ・ 着床痕数
- ・ 早期および後期吸収胚数
- ・ 生存胎児および死亡胎児数
- ・ 生存胎児および死亡胎児の性別
- ・ 生存胎児および死亡胎児の体重

着床痕が目視で確認出来ない子宮角は10%硫化アンモニウム溶液に浸漬し、着床痕を可視化した。

胎児； 全生存胎児について、ペントバルビタールナトリウムの皮下注射により屠殺後、外表検査をした。各腹約半数の個体はBouin液に固定し、切開して内部器官の検査を実施した。残りの半数は内臓を取り出し無水エタノールに固定した後、アリザリンレッドSおよびアルシアンブルーで染色し、骨格検査に供した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果：概要を後頁の表に示す。

母動物；試験期間中、母動物の死亡は認められず、何れの用量群においても投与に関連する一般状態の変化は認められなかった。妊娠率は何れの群においても 96% であった。

450 および 150mg/kg/day 群における体重増加量が、数期間で対照群に比べ統計学的有意に減少した\*。更に、これらの群では補正体重増加量(妊娠 0~21 日の増体重-妊娠子宮重量)が対照群に比べ減少し、450mg/kg/day 群では統計学的に有意であった。

450 および 150mg/kg/day 群の妊娠 6~14 日の各調査期間における摂餌量が対照群に比べ有意に減少した\*。また、30mg/kg/day 群では妊娠 6~8 日の期間の摂餌量が対照群に比べ軽度ではあるが統計学的有意に減少したが、この変化は一時的であり、毒性学的意義の低い変化と考えられた。

450 および 150mg/kg/day 群母動物の肝臓重量(実重量および対体重比)が対照群に比べ増加した。

母動物の剖検時に、450mg/kg/day 群の雌 4 匹で肝臓の腫大が観察され、投与の影響と判断された。肝臓の病理組織学的検査では 450 および 150mg/kg/day 群で小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度および程度が増加した。

(\* 申請者注)

450 および 150mg/kg/day 群では、投与初期(妊娠 6~8 日)の体重増加量および摂餌量が有意に減少したものの、用量との明確な相関は見られておらず、検体投与による特異的な急性毒性影響とは考えられなかった。

着床所見；450mg/kg/day 群では、雌雄合計および雌雄別の平均胎児体重が対照群を 5% 下回った。その他の着床所見には投与の影響は認められなかった。

胎児；

外表検査；胎児の奇形または変異は観察されなかった。

450 mg/kg/day 群において、胎盤の癒合が 4 例で認められ、そのうちの 3 例は同腹児であり、残りの 1 例は別の母動物の児であった。しかし、同一試験機関において実施された試験の対照群において同様の発生率が確認された(別々の同腹児で 3 例の胎盤癒合が観察された)ため、この所見は偶発的なものと考えられた。

内臓検査；450 および 150 mg/kg/day 群において 2 例、ならびに 30 mg/kg/day 群で 1 例の重度の腎盂拡張(奇形)が認められた(対照群では 0)。この発生頻度は同試験機関における背景対照データの範囲を僅かに超えたが、同試験機関で直前に実施した試験の低用量群において明らかに投与に関連しない変化として発生した同変化の発生頻度も考慮すると、自然発生頻度の範囲内であり、偶発的な変動と考えられた。

その他、450 mg/kg/day 群の胎児 1 例で横隔膜ヘルニアならびに肺尾状葉欠損(奇形)が、対照群の胎児 1 例で全内臓逆位(奇形)が認められたが、何れも単発的であったため投与の影響とはみなさなかった。

450mg/kg/day 群では、胸腺遺残(片側性/両側性)(変異)および蛇行尿管及び/又は尿管拡張(片側性/両側性)(変異)の胎児および腹の発生率が対照群よりも高く、投与に関連した変化と考えられた。これらの所見は 150mg/kg/day 群でも対照群に比べ僅かに増加したが、同試験機関における背景対照データの範囲内であるか同程度であることから偶発的な変化と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 背景対照データとの比較：内臓検査

用量 (mg/kg/day)	胎児の発生数 (腹毎の異常胎児出現率平均(%))					影響を受けた腹数 (影響を受けた腹の割合(%))				
	0	30	150	450	背景対照 データの範囲	0	30	150	450	背景対照 データの範囲
重度の腎盂拡張 (片側性/両側性)	0/146 (0.0)	1/147 (0.6)	2/155 (1.2)	2/149 (1.3)	0/183-2/161 (0.0-1.0)	0/22 (0.0)	1/22 (4.5)	2/22 (9.1)	1/22 (4.5)	0/25-2/24 (0.0-8.3)
胸腺遺残 (片側性/両側性)	6/146 (3.9)	7/147 (4.6)	14/155 (9.2)	21/149 (14.5)	2/153-11/175 (1.3-6.0)	5/22 (22.7)	5/22 (22.7)	8/22 (36.4)	10/22 (45.5)	1/19-8/24 (5.3-33.3)
蛇行尿管及び/ 又は尿管拡張 (片側性/両側性)	46/146 (33.2)	57/147 (36.9)	72/155 (46.2)	88/149 (58.6)	29/153-78/175 (20.5-45.1)	17/22 (77.3)	17/22 (77.3)	20/22 (90.9)	20/22 (90.9)	17/25-23/24 (68.0-95.8)

表 他試験(2006年報告)における腎盂拡張(重度)の発生頻度

群	胎児の発生数 (腹毎の異常胎児出現率平均(%))				影響を受けた腹数 (影響を受けた腹の割合(%))			
	対照	低用量	中用量	高用量	対照	低用量	中用量	高用量
重度の腎盂拡張 (片側性/両側性)	0/160 (0.0)	2/147 (1.3)	0/160 (0.0)	0/164 (0.0)	0/23 (0.0)	2/22 (9.1)	0/23 (0.0)	0/22 (0.0)

骨格検査:450mg/kg/day 群の1例で2頸椎体(片側性)軟骨癒合(奇形)が認められたが、この所見は単発的であったため、投与の影響とは判断しなかった。  
450mg/kg/day 群では、胸椎体の分離/軟骨分離(変異)および胸椎体のダンベル状および/または二分裂/正常軟骨(変異)の発生率が対照群に比べ増加した。いずれの所見についても、発生胎児数および影響を受けた腹数とも背景対照データの範囲を超えており、投与に関連した変化と考えられた。胸椎体のダンベル状および/または二分裂/正常軟骨(変異)の発生率は150mg/kg/day 群においても対照群に比べ僅かに増加したが、背景データの範囲内であったため投与の影響とは判断しなかった。

表 背景対照データとの比較：骨格検査

用量(mg/kg/day)	胎児の発生数 (腹毎の異常胎児出現率平均(%))					同腹児の発生率 (影響を受けた腹の割合(%))				
	0	30	150	450	背景対照 データの範囲	0	30	150	450	背景対照 データの範囲
胸椎体：分離/ 軟骨分離	0/157 (0.0)	1/160 (0.6)	0/167 (0.0)	4/159 (2.6)	0/197-1/173 (0.0-0.5)	0/22 (0.0)	1/22 (4.5)	0/22 (0.0)	4/22 (18.2)	0/25-1/23 (0.0-4.3)
胸椎体：ダンベル状 及び/又は 二分裂/正常軟骨	3/157 (1.8)	9/160 (5.3)	12/167 (7.1)	29/159 (20.8)	1/144-12/176 (0.7-7.2)*	2/22 (9.1)	7/22 (31.8)	9/22 (40.9)	14/22 (63.6)	1/19-9/23 (5.3-39.1)*

\* 背景対照データには胸椎体：ダンベル状又は不完全骨化及び/又は二分裂を含む

以上の結果、450 および 150 mg/kg/day の用量において母動物に対し体重増加量の低下、摂餌量の低下、肝臓重量の増加、肝臓腫大(450mg/kg/day 群のみ)および小葉中心性肝細胞肥大が認められ、胎児に対しては450mg/kg/day の用量で軽度の胎児低体重、内臓および骨格における変異の軽度増加が認められ、本試験における母動物の無毒性量は30mg/kg/day、胎児の無毒性量は150mg/kg/day であった。催奇形性は認められなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表：結果の概要

1. 母動物

用量(mg/kg/day)		0	30	150	450	
交尾雌数		23	23	23	23	
妊娠雌数 (%)		22 (96)	22 (96)	22 (96)	22 (96)	
不妊雌数		1	1	1	1	
死亡妊娠雌数		0	0	0	0	
死亡不妊雌数		0	0	0	0	
一般状態		—	影響なし	影響なし	影響なし	
体重増加量(g)	妊娠 0-6 日	33.5	30.7	30.3	29.0	
	妊娠 6-8 日	6.8	4.7	-0.4**	0.0**	
	妊娠 8-10 日	10.5	9.6	9.5	8.2	
	妊娠 10-14 日	18.7	17.7	13.8*	8.6**	
	妊娠 14-18 日	43.4	42.8	47.7	41.5	
	妊娠 18-21 日	48.7	48.2	50.3	49.5	
	妊娠 6-10 日	17.2	14.3	9.1**	8.3**	
	妊娠 6-14 日	36.0	32.0	22.9**	16.9**	
	妊娠 6-18 日	79.3	74.7	70.6	58.4**	
	妊娠 6-21 日	128.0	123.0	120.9	107.9**	
補正体重増加量(g) <sup>a</sup>		59.4	51.2	45.8	37.6**	
摂餌量(g/day)	妊娠 6-8 日	25.5	22.9**	20.9**	21.6**	
	妊娠 8-10 日	25.7	23.8	21.9**	22.3**	
	妊娠 10-12 日	26.5	25.1	22.7**	22.8**	
	妊娠 12-14 日	27.3	26.4	24.7*	23.1**	
	妊娠 14-16 日	26.2	25.7	25.8	25.0	
	妊娠 16-18 日	28.5	28.4	29.6	28.2	
妊娠 18-21 日	27.8	27.7	28.2	27.5		
最終体重(g)		435	428	424	411	
肝臓重量 (対照群に対する割合(%))	実重量(g)	13.95 (100)	14.06 (101)	16.05** (115)	19.47** (140)	
	対体重比(%) <sup>b</sup>	3.21 (100)	3.29 (103)	3.78** (118)	4.73** (147)	
剖検所見		—	影響なし	影響なし	肝臓腫大 4 例	
肝臓病理組織学的検査		—	影響なし	肝細胞肥大 発生頻度増	肝細胞肥大 発生頻度増	
着床所見	検査母動物数		22	22	22	22
	平均黄体数		16.5	16.2	17.3	16.1
	平均着床痕数		15.1	15.3	15.5	15.0
	平均着床前損失率(%) <sup>c</sup>		8.0	5.1	9.6	6.7
	平均早期吸収胚数		1.3	1.4	0.9	0.8
	平均後期吸収胚数		0.0	0.0	0.0	0.2
	平均生存胎児数		13.8	14.0	14.6	14.0
	生存胎児数		303	307	322	308
	生存胎児を有する腹数		22	22	22	22
	死亡胎児数		0	0	0	0
	死亡胎児を有する腹数		0	0	0	0
	平均胎児死亡率(%) <sup>d</sup>		0.0	0.0	0.0	0.0
	平均着床後損失率(%) <sup>e</sup>		9.4	8.8	5.7	6.7
	胎児性比(雄%)		47.3	46.4	50.2	50.0
	胎児体重(g) (対照群に対する割合(%))	雄	5.67 (100)	5.59 (99)	5.54 (98)	5.37* (95)
雌		5.40 (100)	5.38 (100)	5.25 (97)	5.13* (95)	
雌雄合計		5.51 (100)	5.48 (100)	5.39 (98)	5.26* (95)	

a: 補正体重増加量=妊娠 0~21 日の増体重-妊娠子宮重量(g)

b: 申請者の計算による

c: 平均着床前損失率=(黄体数-着床数)/黄体数×100

d: 平均胎児死亡率=腹当たり死亡胎児数/腹当たり総胎児数×100

e: 平均着床後損失率=(着床数-生存胎児数)/着床数×100

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01 (統計手法) 母動物の体重増加量、補正体重増加量、摂餌量、肝臓重量、黄体数、着床痕数、吸収胚数、着床前後損失率; Dunnett's testまたはDunn's test、胎児性比;  $\chi^2$  test、死亡胎児数; Fisher Exact test

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2. 胎児

用量(mg/kg/day)		0	30	150	450
<b>外表検査</b>					
検査胎児(腹)数		303 (22)	307 (22)	322 (22)	308 (22)
低体重児 (体重 <4.0g) <sup>a</sup>	変異	7 (3) [2.2]	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	5 (4) [1.5]
胎盤癒合 (着床箇所 1)	—	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
胎盤癒合 (着床箇所 2)	—	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1)
<b>内臓検査</b>					
検査胎児(腹)数		146 (22)	147 (22)	155 (22)	149 (22)
重度の腎盂拡張	奇形	0 (0) [0.0]	1 (1) [0.6]	2 (2) [1.2]	2 (1) [1.3]
横隔膜ヘルニア/ 肺尾状葉欠損	奇形	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	1 (1) [0.6]
全内臓逆位	奇形	1 (1) [0.6]	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]
胸腺遺残(片側性/両側性)	変異	6 (5) [3.9]	7 (5) [4.6]	14 (8) [9.2]	21** (10) [14.5]
蛇行尿管及び/又は尿管拡張 (片側性/両側性)	変異	46 (17) [33.2]	57 (17) [36.9]	72** (20) [46.2]	88** (20) [58.6#]
<b>骨格検査</b>					
検査胎児(腹)数		157 (22)	160 (22)	167 (22)	159 (22)
2 頸椎体軟骨癒合 (環椎、軸椎を除く)(片側性)	奇形	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	0 (0) [0.0]	1 (1) [0.6]
胸椎体：分離/軟骨分離	変異	0 (0) [0.0]	1 (1) [0.6]	0 (0) [0.0]	4 (4) [2.6]
胸椎体：ダンベル状及び/又は 二分裂/正常軟骨	変異	3 (2) [1.8]	9 (7) [5.3]	12* (9*) [7.1]	29** (14**) [20.8##]

a : 本試験施設では低体重児を「背景対照データの平均体重の 25%未満のもの、すなわち 4.0g 未満のもの」と定めている。

( ) : 腹数

[ ] : 腹毎の異常胎児出現率平均(%)

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Fisher exact test、申請者による検定)

# : p<0.05、## : p<0.01 (Steel検定、申請者による検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(3) ウサギを用いた催奇形性試験

(毒性資料 No.20)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2006年

検体純度： %

供試動物： New Zealand White (Cri: KBL(NZW))系妊娠雌ウサギ、1群当たり 23 匹  
投与時体重： 3.17~3.90kg、約 19 週齢

投与期間： 妊娠 6 日から 28 日の 23 日間 (受精日を妊娠 0 日とした)  
(2005 年 10 月 23 日~12 月 6 日)

投与方法： 検体を 0.5%メチルセルロース 400 水溶液に懸濁させ、0、10、25 および  
75mg/kg/day の用量で、投与期間中毎日 1 回 4mL/kg の投与容量で強制経口投与  
した。

用量設定根拠；

観察・検査項目：

母動物； 全ての動物について妊娠 2 日から 29 日まで毎日一般症状を観察した。死亡、  
瀕死状態および流産については 1 日 2 回(週末および休日は 1 回)観察し、瀕死  
状態、流産の兆候をしめした動物は速やかに屠殺した。妊娠 3、6、8、10、12、  
14、16、18、20、22、24、26 および 29 日目の体重を測定し、体重増加量およ  
び子宮重量を除いた補正増体重を計算した。妊娠 3~4、4~5、5~6、6~8、8  
~10、10~12、12~14、14~16、16~18、18~20、20~22、22~24、24~26、  
26~28 および 28~29 日の摂餌量を計測した。

妊娠 29 日目に生存している雌動物を屠殺した。内臓について剖検し、肝臓重  
量および肋骨数を記録した。妊娠子宮重量を測定し、黄体数、着床数、吸収  
胚数(早期と後期に分類)、生存または死亡胎児数、および生存胎児個体重量の  
着床所見を測定した。黄体が認められ、肉眼で着床が確認できない場合は、  
子宮角を 20%硫酸アンモニウムに浸漬し着床の有無を確認した。将来の検査  
の可能性に備えて肝臓を中性 10%ホルマリン中で保存した。投与期間中に死  
亡または屠殺した動物は速やかに剖検し、着床や黄体が認められる場合は数  
とタイプを記録し、肉眼で着床が確認できない場合は、子宮角を 20%硫酸ア  
ンモニウムに浸漬し、着床の有無を確認した。

胎児； 全生存胎児について、ペントバルビタールナトリウムの皮下注射により屠殺  
後、外表検査をした。各腹約半数の個体は頭部を Bouin 液に固定し、内部構造  
を検査した。全ての個体について内臓を検査し性別を確認した後、無水エタ  
ノールで固定後 Staple and Schnell の変法を用いて染色し骨格検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果：概要を後頁の表に示す。

母動物；対照群の1例および75mg/kg/day群の1例が投与時のミスにより死亡した。また、25mg/kg/dayの1例に偶発性外傷による後肢の骨折とそれに伴う摂餌量および体重の低下が認められたため安楽死させた。何れも投与による影響とは考えられなかった。

試験期間を通して、流産は起こらなかった。投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

妊娠率に対する投与の影響は見られず、妊娠率は全群とも96%であった。

75mg/kg/day群の体重増加量が数期間で対照群に比べ統計学的有意に減少し、妊娠6～29日全体の体重増加量は低下傾向を示した。同群における母動物の補正体重変化量は対照群(0.17kg 減少)に比べてより顕著であった(0.25kg 減少)(有意差なし)。また、同群において、妊娠14～18、18～22および22～26日の平均摂餌量が対照群に比べ有意に減少した。

何れの用量においても、投与に関連した剖検所見は認められなかった。肝臓重量にも投与の影響は認められなかった。

75 mg/kg/day群において平均胎児体重が雌雄とも対照群に比べ有意に低下した。他の着床所見には、何れの用量においても投与の影響は認められなかった。

胎児；

外表検査；75 mg/kg/day群で低体重児(体重<28.0 g：変異)の発現頻度および影響を受けた腹数が増加した。他の投与群については投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

内臓検査；75 mg/kg/day群で、別々の腹に属する2匹の胎児で胆嚢欠損(奇形)が見られた(対照群は0例)。この所見については、発生率が低いこと、および本試験機関で実施された他試験においても同様の発生率で観察されていることから、投与とは関連のない変化と考えられた。<sup>a)</sup>

75 mg/kg/day群において、右側鎖骨下動脈食道背方走行(変異)の発生胎児率が統計学的に有意に上昇したが、背景対照データの範囲内であり偶発的変化と判断した。他に統計学的有意な変化は認められなかった。

表1 背景対照データとの比較：内臓検査

用量 (mg/kg/day)	胎児の発生数 (腹毎の異常胎児出現率平均(%))					影響を受けた腹数 (影響を受けた腹の割合(%))				
	0	10	25	75	背景対照 データの範囲	0	10	25	75	背景対照 データの範囲
胆嚢：欠損(奇形)	0/173 (0.0)	0/197 (0.0)	0/171 (0.0)	2/187 (1.2)	0/1451 (0.0)	0/21 (0.0)	0/22 (0.0)	0/21 (0.0)	2/21 (9.5)	0/162 (0.0)
胆嚢：矮小(変異)	5/173 (2.6)	4/197 (2.0)	2/171 (1.1)	2/187 (1.1)	0/219-3/235 (0.0-1.3)	4/21 (19.0)	4/22 (18.2)	2/21 (9.5)	2/21 (9.5)	0/24-3/24 (0.0-12.5)
右側鎖骨下動脈 ：食道背方走行	0/173 (0.0)	3/197 (1.3)	1/171 (0.9)	5/187* (3.0)	0/235-9/198 (0.0-4.4)	0/21 (0.0)	2/22 (9.1)	1/21 (4.8)	4/21 (19.0)	0/24-3/24 (0.0-12.5)

\* : p<0.05 (Fisher exact test)

a) 申請者注

75mg/kg/day群で見られた胆嚢欠損が検体投与の影響でないとする理由について、申請者は更に以下のとおり考察する。

表1に示すとおり、本試験機関での背景対照データでは胆嚢欠損は認められていない。一方、本試験機関で実施された別試験では、低用量もしくは中用量で胆嚢欠損が認められたものの、これらの試験の高用量では胆嚢欠損はみられなかったことから、認められた胆嚢欠損はいずれもこれらの試験で投与された検体の影響ではなく、偶発的な発現であると考えられた。従って、本試験機関での胆嚢欠損は少ない頻度

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ではあるものの自然発生的に見られる奇形であると考えられ、本試験の75mg/kg/day群で認められた2/187例についても、統計学的有意差を伴っておらず偶発的な所見であると考えられる。更に、同群で他に投与の影響と考えられる奇形・変異が認められないこと、また、胆嚢矮小については対照群で発現頻度が高くなっていることから、同群で認められた胆嚢欠損は検体の影響とは考えられなかった。

表2 本試験機関で実施された別試験で認められた胆嚢欠損発生頻度

報告書番号 (報告年)	胎児の発生数 (腹毎の異常胎児出現率平均(%))				影響を受けた腹数 (影響を受けた腹の割合(%))			
	対照群	低用量	中用量	高用量	対照群	低用量	中用量	高用量
SA 02056 (2003年)	0/217 (0.0)	0/221 (0.0)	1/233 (0.3)	0/186 (0.0)	0/24 (0.0)	0/24 (0.0)	1/24 (4.2)	0/20 (0.0)
SA 02046 (2003年)	0/200 (0.0)	1/220 (0.5)	0/230 (0.0)	0/196 (0.0)	0/22 (0.0)	1/24 (4.2)	0/24 (0.0)	0/20 (0.0)
SA 03131 (2006年)	0/198 (0.0)	0/197 (0.0)	1/208 (0.6)	0/206 (0.0)	0/24 (0.0)	0/23 (0.0)	1/23 (4.3)	0/22 (0.0)
SA 04279 (2006年)	0/198 (0.0)	0/199 (0.0)	1/206 (0.0)	0/142 (0.0)	0/20 (0.0)	0/21 (0.0)	1/22 (4.5)	0/18 (0.0)

骨格検査；前仙椎数25・腰椎数6の胎児(変異)の発生率が75および25mg/kg/day群で、恥骨の骨化不完全(片側性、両側性)(変異)が75および10mg/kg/dayで、それぞれ対照群に比べ統計学的有意に増加した。しかし、これらの増加は対照群での発生率が背景対照データの平均値よりも低いことから有意差がなかったと考えられ、また、発生率はいずれも背景対照データをわずかに超えた程度であることから、これらの増加は偶発的変動と判断された。また、前仙椎数25・腰椎数6について影響を受けた腹数が25mg/kg/dayにおいて、恥骨の骨化不完全(片側性、両側性)について影響を受けた腹数が10mg/kg/dayにおいて、それぞれ対照群に比べ統計学的有意に増加したが、より高用量の群では有意差が認められず明確な用量関連性が認められないことから、偶発的変動と判断された。第13胸肋(片側性/両側性)(変異)の分離が10mg/kg/day群で有意に増加したが、用量との関連性がなく偶発的変化と考えられた。

表3 背景対照データとの比較：骨格検査

用量 (mg/kg/day)	胎児の発生数 (腹毎の異常胎児出現率平均(%))					影響を受けた腹数 (影響を受けた腹の割合(%))				
	0	10	25	75	背景対照 データの範囲	0	10	25	75	背景対照 データの範囲
第13胸肋 (片側性/両側性) ：分離	15/173 (9.7)	30/197* (13.8)	15/171 (8.8)	19/187 (10.3)	11/235-27/219 (5.1-12.7)	11/21 (52.4)	12/22 (54.5)	11/21 (52.4)	14/21 (66.7)	5/21-14/21 (23.8-66.7)
前仙椎数25、 腰椎数6	0/173 (0.0)	2/197 (1.4)	7/171** (3.5)	5/187* (3.5)	0/201-8/198 (0.0-3.2)	0/21 (0.0)	2/22 (9.1)	5/21* (23.8)	3/21 (14.3)	0/23-3/24 (0.0-12.5)
恥骨 (片側性/両側性) ：骨化不完全	0/173 (0.0)	7/197* (3.4)	0/171 (0.0)	8/187** (3.8)	2/217-7/200 (0.8-3.1)	0/21 (0.0)	5/22* (22.7)	0/21 (0.0)	4/21 (19.0)	2/24-6/22 (8.3-27.3)

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Fisher exact test)

本試験条件において、75mg/kg/day群において母動物への影響として体重増加量および接種量の減少が認められ、同群において胎児重量の低下、低体重児数の増加が認められた。本試験における無毒性量は母動物および胎児とも25mg/kg/dayと判断された。催奇形性は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表：結果の概要

1. 母動物

用量 (mg/kg/day)		0	10	25	75	
交尾雌数		23	23	23	23	
妊娠雌数 (%)		22 (96)	22 (96)	22 (96)	22 (96)	
不妊雌数		1	1	1	1	
死亡妊娠雌数		1	0	1	1	
死亡不妊雌数		0	0	0	0	
一般状態		—	影響なし	影響なし	影響なし	
体重増加量(kg)	妊娠 3-6 日	0.04	0.02	0.02	0.01	
	妊娠 6-8 日	0.02	0.04	0.01	0.01	
	妊娠 8-10 日	0.04	0.03	0.03	0.03	
	妊娠 10-14 日	0.06	0.06	0.07	0.06	
	妊娠 14-18 日	0.09	0.10	0.07	0.02**	
	妊娠 18-22 日	0.07	0.07	0.04	0.02**	
	妊娠 22-26 日	0.03	0.02	0.04	0.03	
	妊娠 26-29 日	0.00	0.03	0.03	0.03	
	妊娠 6-10 日	0.06	0.08	0.04	0.04	
	妊娠 6-14 日	0.12	0.14	0.11	0.11	
	妊娠 6-18 日	0.21	0.24	0.18	0.12**	
	妊娠 6-22 日	0.28	0.30	0.23	0.15**	
	妊娠 6-26 日	0.31	0.32	0.28	0.17**	
	妊娠 6-29 日	0.31	0.35	0.30	0.20	
補正体重増加量 (kg) <sup>a</sup>		-0.17	-0.16	-0.17	-0.25	
摂餌量(g/day)	妊娠 6-8 日	175.5	183.8	177.2	162.9	
	妊娠 8-10 日	180.7	185.1	176.8	171.6	
	妊娠 10-14 日	167.5	173.9	162.4	154.0	
	妊娠 14-18 日	157.6	171.4	154.8	123.6**	
	妊娠 18-22 日	176.4	177.1	159.9	115.9**	
	妊娠 22-26 日	131.7	118.2	125.7	93.3**	
妊娠 26-29 日	93.8	98.8	105.2	97.1		
剖検所見		—	影響なし	影響なし	影響なし	
肝臓重量		—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
着床所見	検査母動物数	21	22	21	21	
	平均黄体数	12.1	12.5	11.0	11.4	
	平均着床数	9.1	9.9	8.8	9.6	
	平均着床前損失率(%) <sup>b</sup>	23.8	20.0	19.8	15.8	
	平均早期吸収胚数	0.7	0.5	0.5	0.4	
	平均後期吸収胚数	0.0	0.1	0.0	0.0	
	平均生存胎児数	8.2	9.0	8.1	8.9	
	生存胎児数	173	197	171	187	
	生存胎児を有する腹数	21	22	21	21	
	死亡胎児数	3	8	3	4	
	死亡胎児を有する腹数	3	5	3	4	
	平均胎児死亡率(%) <sup>c</sup>	1.3	3.3	1.4	1.9	
	平均着床後損失率(%) <sup>d</sup>	9.4	9.5	8.6	6.4	
	胎児性比(雄%)	48.1	48.5	40.1	43.6	
	胎児体重(g) (対照群に対する割合(%))	雄	39.6 (100)	39.1 (99)	39.4 (100)	35.2** (89)
		雌	38.4 (100)	37.1 (97)	38.9 (101)	34.3* (89)
雌雄合計		39.0 (100)	38.1 (97)	39.1 (100)	34.7** (89)	

a: 補正体重増加量=妊娠 6~29 日の増体重-妊娠子宮重量(g)

b: 平均着床前損失率=(黄体数-着床数)/黄体数×100

c: 平均胎児死亡率=腹当たり死亡胎児数/腹当たり総胎児数×100

d: 着床後損失率=(着床数-生存胎児数)/着床数×100

\*: p<0.05、\*\* : p<0.01 (統計手法) 母動物の体重増加量、補正体重増加量、摂餌量、肝臓重量、黄体数、着床痕数、吸収胚数、着床前後損失率; Dunnett's testまたはDunn's test、胎児性比;  $\chi^2$  test、死亡胎児数; Fisher Exact test

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## 2. 胎児

用量 (mg/kg/day)		0	10	25	75
<b>外表検査</b>					
検査胎児 (腹) 数		173 (21)	197 (22)	171 (21)	187 (21)
後肢過伸展・異常捻転	奇形	0 (0) [0]	1 (1) [0.6]	0 (0) [0]	0 (0) [0]
胸郭破裂(臓器の突出は認めず)・臍帯位置異常	奇形	1 (1) [0.5]	0 (0) [0]	0 (0) [0]	0 (0) [0]
低体重児 (体重<28.0g) <sup>a</sup>	変異	6 (5) [3.0]	10 (5) [4.1]	5 (4) [2.1]	25** (10) [12.5]
<b>内臓検査</b>					
検査胎児 (腹) 数		173 (21)	197 (22)	171 (21)	187 (21)
頭部検査胎児数		82	95	81	89
胆嚢：欠損	奇形	0 (0) [0]	0 (0) [0]	0 (0) [0]	2 (2) [1.2]
腕頭動脈：短縮	変異	1 (1) [0.5]	1 (1) [0.6]	2 (2) [1.4]	3 (3) [1.9]
右側鎖骨下動脈：食道背方走行	変異	0 (0) [0]	3 (2) [1.3]	1 (1) [0.4]	5* (4) [3.0]
肺尾状葉：欠損	変異	9 (6) [4.8]	11 (4) [5.1]	3 (2) [1.5]	12 (7) [5.7]
腎盂(片側)拡張	変異	0 (0) [0]	0 (0) [0]	0 (0) [0]	2 (2) [1.3]
<b>骨格検査</b>					
検査胎児 (腹) 数		173 (21)	197 (22)	171 (21)	187 (21)
頭部検査胎児数		91	102	90	98
鼻骨間縫合：過剰骨化部位	変異	0 (0) [0]	3 (3) [2.8]	0 (0) [0]	2 (2) [2.0]
第 13 胸肋(片側性/両側性)：分離	変異	15 (11) [9.7]	30* (12) [13.8]	15 (11) [8.8]	19 (14) [10.3]
前仙椎数 25、腰椎数 6	変異	0 (0) [0]	2 (2) [1.4]	7** (5*) [3.5]	5* (3) [3.5]
恥骨(片側性/両側性)：骨化不完全	変異	0 (0) [0]	7* (5*) [3.4]	0 (0) [0]	8** (4) [3.8]
恥骨(両側性)：未骨化	変異	0 (0) [0]	0 (0) [0]	0 (0) [0]	3 (2) [1.4]
尾椎数 15 未満	変異	5 (3) [2.9]	0* (0) [0]	4 (3) [2.0]	5 (5) [2.6]

a：本試験施設では低体重児を「背景対照データの平均体重の 25%未満のもの、すなわち 28.0g 未満のもの」と定めている。

( )：腹数

[ ]：腹毎の異常胎児出現率平均(%)

\*：p<0.05、\*\*：p<0.01 (Fisher exact test、外表検査の所見のみ申請者による検定)

腹毎の異常胎児出現率平均については統計学的有意差なし (Steel 検定、申請者による検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## 9. 変異原性

### (1) 細菌を用いた復帰変異原性試験

(毒性資料 No.21)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2006年

検体純度： %

試験方法：ネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* の5つのヒスチジン要求性 LT2 変異株 TA 1535、TA 100、TA 1537、TA 98 および TA 102 を用いて、薬物代謝酵素系(S9 Mix)の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて復帰変異原性を検定した。

試験は2回実施し、1回目はプレートインコーポレーション法、2回目はプレインキュベーション法(プレインキュベーション37°C、20分間)を用いた。検体をDMSOに溶解し、16、50、158、500、1581および5000µg/plateの用量で試験した。各試験、各用量、各菌株毎に3つのプレートで実施した。

陽性対照として、S9 Mix 非存在下ではアジ化ナトリウム(NA-azide) 10µg/plate (TA 1535 用)、ニトロフラントイン(NF) 0.2µg/plate (TA 100 用)、4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン(4-NPDA) 10µg/plate (TA 1537 用)、同 0.5µg/plate (TA 98 用)、マイトマイシン C(MMC) 0.2µg/plate (TA 102 用、プレートインコーポレーション法のみ)、クメンヒドロペルオキシド(Cumene) 50µg/plate (TA 102 用、プレインキュベーション法のみ)、S9 Mix 存在下では何れの菌株に対しても2-アミノアントラセン(2-AA) 3µg/plate を用いた。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次頁の表に示した。

供試した何れの用量においても、薬物代謝活性酵素の存在下、非存在下に関わらず、検体による復帰変異コロニー数の生物学的に有意な増加は観察されなかった。一方、陽性対照は何れも顕著な変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断された。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 1 回目試験(プレートインコーポレーション法)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9 Mix の有無	プレート当たりの復帰変異コロニー数					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA102	TA1537	TA98	
対照(DMSO)			12	91	190	6	27	
検体	16	-	10	86	144	6	25	
	50		7	84	167	5	22	
	158		9	93	198	4	20	
	500		8	91	161	4	22	
	1581		8	75	134	4	18	
	5000		10	77	127	6	23	
NA-azide	10		514					
NF	0.2			239				
MMC	0.2				550			
4-NPDA	10					71		
	0.5						166	
対照(DMSO)				7	112	248	8	32
検体	16		+	7	110	247	5	28
	50	6		106	237	6	27	
	158	5		138	255	5	24	
	500	6		99	215	8	28	
	1581	6		95	219	6	19	
	5000	5		102	209	4	26	
2-AA	3	74		1302	609	83	965	

(表中の数値は3反復の平均値)

1581 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上の濃度で検体の沈殿が認められた。

表 2 回目試験(プレインキュベーション法)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9 Mix の有無	プレート当たりの復帰変異コロニー数					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA102	TA1537	TA98	
対照(DMSO)			20	120	209	8	26	
検体	16	-	24	111	248	6	25	
	50		17	106	204	7	27	
	158		21	105	240	6	24	
	500		17	112	200	6	24	
	1581		16	108	174	6	22	
	5000		17	104	177	6	30	
NA-azide	10		537					
NF	0.2			309				
Cumene	50				343			
4-NPDA	10					82		
	0.5						164	
対照(DMSO)				10	130	249	7	45
検体	16		+	7	120	236	7	38
	50	8		111	247	5	33	
	158	9		121	252	7	34	
	500	10		118	241	7	27	
	1581	6		100	241	7	30	
	5000	8		106	205	6	29	
2-AA	3	84		1384	436	141	816	

(表中の数値は3反復の平均値)

1581 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上の濃度で検体の沈殿が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(2) 細菌を用いた復帰変異原性試験

(毒性資料 No.22)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2008年

検体純度： %

試験方法： ネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* の5つのヒスチジン要求性 LT2 変異株 TA 1535、TA 100、TA 1537、TA 98 および TA 102 を用いて、薬物代謝酵素系(S9 Mix)の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて復帰変異原性を検定した。

試験は2回実施し、1回目はプレートインコーポレーション法、2回目はプレインキュベーション法(プレインキュベーション 37°C、20分間)を用いた。検体を DMSO に溶解し、1回目試験は 16、50、158、500、1581 および 5000µg/plate、2回目試験は 5、16、50、158、500 および 1581µg/plate の用量で試験した。各試験、各用量、各菌株毎に3つのプレートで実施した。

陽性対照として、S9 Mix 非存在下ではアジ化ナトリウム(NA-azide) 10µg/plate (TA1535 用)、ニトロフラントイン(NF) 0.2µg/plate (TA100 用)、4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン(4-NPDA) 10µg/plate (TA1537 用)、同 0.5µg/plate (TA98 用)、マイトマイシン C(MMC) 0.2µg/plate (TA102 用、プレートインコーポレーション法のみ)、クメンヒドロペルオキシド(Cumene) 50µg/plate (TA102 用、プレインキュベーション法のみ)、S9 Mix 存在下では何れの菌株に対しても 2-アミノアントラセン(2-AA) 3µg/plate を用いた。

用量設定根拠；

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

供試した何れの用量においても、薬物代謝活性酵素の存在下、非存在下に関わらず、検体による復帰変異コロニー数の生物学的に有意な増加は観察されなかった。一方、陽性対照は何れも顕著な変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 1 回目試験(プレートインコーポレーション法)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9 Mix の有無	プレート当たりの復帰変異コロニー数					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA102	TA1537	TA98	
対照(DMSO)			25	111	189	8	22	
検体	16	-	22	95	194	8	20	
	50		26	90	217	6	18	
	158		20	81	216	6	14	
	500		17	81	183	7	15	
	1581		16	47	163	8	11	
	5000		9	28	159	4	2	
NA-azide	10		502					
NF	0.2			346				
MMC	0.2				629			
4-NPDA	10					85		
	0.5						156	
対照(DMSO)				14	113	217	9	35
検体	16		+	13	93	221	7	23
	50	9		64	203	10	21	
	158	6		88	197	7	29	
	500	8		83	229	6	37	
	1581	6		67	136	6	28	
	5000	3		27	114	4	10	
2-AA	3	123		1253	493	181	1480	

(表中の数値は3反復の平均値)

500 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上の濃度で細胞毒性が認められた。

表 2 回目試験(プレインキュベーション法)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9 Mix の有無	プレート当たりの復帰変異コロニー数					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA102	TA1537	TA98	
対照(DMSO)			9	132	254	6	27	
検体	5	-	8	115	244	7	27	
	16		9	130	257	7	28	
	50		10	162	266	6	31	
	158		12	101	232	7	24	
	500		9	112	222	5	25	
	1581		12	90	208	4	20	
NA-azide	10		757					
NF	0.2			626				
Cumene	50				474			
4-NPDA	10					103		
	0.5						181	
対照(DMSO)				10	154	232	9	41
検体	5		+	11	148	258	8	39
	16	9		134	251	8	36	
	50	8		163	278	5	40	
	158	11		138	273	7	37	
	500	9		130	267	7	34	
	1581	9		108	209	4	40	
2-AA	3	115		1958	512	158	1464	

(表中の数値は3反復の平均値)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はパイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(3) チャイニーズハムスターV79 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (毒性資料 No.23)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2005年

検体純度： %

試験方法：チャイニーズハムスターV79 細胞を用い、代謝活性化(+S9 mix)および非活性化(-S9 mix)によって染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

観察は 1 濃度あたり 100 個の分裂中期像について、2 連で実施した。

用量設定根拠；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験結果：結果を次表に示した。

代謝活性化の有無に関わらず検体の何れの処理においても、異常を有する分裂中期細胞数に統計学的、生物学的に有意な変化は認められなかった。

一方、陽性対照のマイトマイシンCおよびシクロホスファミドは明白な染色体異常を誘発し、試験系の感受性ならびに使用したS9 mixの活性が確認された。

表 結果

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9 mix	処理 時間	回収 時間	観察 細胞 数	ギャップ		異常の分類												構造異常細胞(%)		倍数 性細 胞	
						g	ig	染色体型			染色体型			その他			ギャップ		交換				
								b	f	d	ib	if	id	ex	maE	ma	cd	含む		除外			
溶媒 対照	0					1	0	3	0	0	1	1	2	0	0	0	0	4.0	3.5	0.0	23		
検体	60	-	4	18	200	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2.0	2.0	0.0	31	
	120					0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1.0	1.0	0.0	19
	180					0	0	2	0	0	1	2	2	0	0	0	1	3.5	3.5	0.0	22		
MMC	0.1					2	3	109	7	0	27	3	1	70	16	0	0	73.5**	72.0**	35.5**	21		
溶媒 対照	0					0	0	1	1	0	3	0	2	6	0	0	0	5.0	5.0	2.0	27		
検体	60	+	4	18	200	0	1	4	0	0	2	0	1	4	0	0	0	4.0	3.5	1.5	36		
	120					2	0	3	1	0	0	1	0	6	0	0	0	4.0	3.0	1.5	22		
	180					1	0	2	0	0	1	0	3	0	0	0	0	2.5	2.0	0.0	23		
CP	2					5	1	35	7	0	39	10	3	49	1	2	0	53.5**	52.5**	21.5**	28		
溶媒 対照	0					0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1.0	1.0	0.0	20		
検体	180					1	0	0	1	0	1	1	2	1	0	0	0	3.0	2.5	0.5	31		
溶媒 対照	0					0	1	1	0	0	3	0	5	0	0	0	0	4.5	4.0	0.0	41		
検体	180					0	0	1	0	0	1	0	4	1	0	0	0	3.5	3.5	0.5	25		
溶媒 対照	0					0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1.5	1.5	0.0	13		
検体	60	-	18	18	200	1	0	1	1	0	0	1	0	0	2	1	0	3.5	3.0	1.0	21		
	120					0	0	1	1	0	0	0	2	0	0	0	0	1.5	1.5	0.0	9		
	180					2	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	2.0	1.5	1.0	10		
MMC	0.03					4	1	57	8	0	21	8	1	22	4	1	0	46.5**	45.0**	12.0**	10		

120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の濃度で検体の沈殿が認められた。

\*\* :  $p < 0.01$  (Fisher exact test)

g : 染色体型ギャップ      ig : 染色体型ギャップ      b : 染色体型切断      f : 染色体型断片

d : 染色体型欠失      ib : 染色体型切断      if : 染色体型断片      id : 染色体型欠失

ex : 交換      maE : 交換を含む重複異常      ma : 重複異常      cd : 染色体破損

MMC : マイトマイシンC      CP : シクロホスファミド

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において染色体異常誘発性は有しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(4) マウスを用いた小核試験

(毒性資料 No.24)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2005年

検体純度： %

試験系： NMRI系 (Hsd/Win) 雄マウス、1群5匹  
試験開始時約6~12週齢、体重36~43g

投与方法： 検体を0.5% Cremophorに懸濁させ、0、250、500および1000mg/kgの用量でマウスに24時間の間隔で2回、腹腔内投与した。陽性対照としてシクロホスファミドを生理食塩水に溶解し20mg/kgの用量で1回腹腔内投与した。いずれの群も投与容量は10mL/kgとした。各群とも最終投与の24時間後に動物を屠殺し、大腿骨骨髓標本を作製した。動物毎に2000の多染性赤血球を観察し、多染性赤血球に対する正染性赤血球数の割合、小核を含む多染性赤血球および正染性赤血球の頻度を計数した。

用量設定根拠；

結果： 検体250 mg/kg以上の投与群で投与後24時間以内に毒性症状が認められた。死亡例はなかった。

検体投与により多染性赤血球と正染性赤血球の比が変化し、マウスの全身が検体に暴露されたことが示された。小核を有する多染性および正染性赤血球の頻度に検体投与の影響はみられなかった。

陽性対照のシクロホスファミド投与では、小核を有する多染性赤血球が統計学的有意に増加した。

表 正染性赤血球数および小核を有する赤血球数 (平均±SD)

試験群	用量 (mg/kg)	投与回数	評価した多染性赤血球数	正染性赤血球数	小核を有する正染性赤血球	小核を有する多染性赤血球
				多染性赤血球 2000個当たり	正染性赤血球 2000個当たり	多染性赤血球 2000個当たり
陰性対照(溶媒)	0	2	10000	3775 ± 737	2.1±2.0	4.0 ±1.6
検体	250			5309 ±1274	2.2±1.5	4.4 ±1.8
	500			6090 ± 852	1.5±0.9	3.2 ±2.3
	1000			7866** ±2018	1.3±0.7	4.2 ±1.5
陽性対照 (CP)	20	1		3243 ± 337	1.7±0.8	28.6**±6.1

CP：シクロホスファミド

\*\*：p<0.01 (non-parametric Wilcoxon Ranking test)

以上の結果より、検体は本試験条件下において多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は有しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(5) チャイニーズハムスターV79細胞を用いたHPRT 前進突然変異試験 (毒性資料 No.25)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2006年

検体純度： %

試験方法：  $4 \times 10^6$ 個のV79細胞を培養液中に接種して16~24時間培養した。接着後、DMSOに溶解した検体を4~256 $\mu$ g/mLの最終濃度で添加した培養液に移し、代謝活性化(+S9)および非活性化(-S9)条件でそれぞれ5時間暴露した。暴露終了後、単層の細胞をPBSで洗浄しトリプシン処理した…①。①から、シャーレ(培地5mL)3枚にそれぞれ200個の細胞を接種し、6日間培養後コロニー数を計数して、暴露直後の細胞毒性を判定した(暴露直後の細胞生存率)。また、フラスコ(培地20mL)に①から  $1.5 \times 10^6$ 個の細胞を接種し、細胞増殖と誘発変異株の発現のために6日間培養した(3日間培養後に別のフラスコに再接種して継代した)…②(発現期間)。変異株選抜のため、6-チオグアニン(6-TG)を10 $\mu$ g/mL含有し、ヒポキサンチン無含有の培地20mLを入れた8つのシャーレに②からそれぞれ  $3 \times 10^5$ 個の細胞を接種し、6~8日間培養しコロニー数を計数した(6-TG耐性コロニー数)。また、3つのシャーレ(培地5mL)に②の細胞200個をそれぞれ接種し、6~8日間培養後コロニー数を計数した(コロニー形成率測定用)。同様の条件で無処理対照および溶媒対照を設けた。

各暴露濃度毎に2つのフラスコを用いた。また、各条件において試験は2回実施した。

以下のパラメータを計算した。

発現期間中の細胞増殖速度

$$= 3 \text{ 日間培養終了時細胞数} \times 6 \text{ 日間培養終了時細胞数}$$

コロニー形成能(CE)(%)

$$= (\text{発現期間終了後のシャーレ当たり平均コロニー数} / 200) \times 100$$

変異の頻度(細胞  $10^6$ 当たりの6-TG耐性コロニー数)

$$= \text{総変異コロニー数} \times 10^6 / (\text{評価したプレート数} \times 3 \times 10^5 \times \text{CE})$$

用量設定根拠；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果：結果を次表に示す。

代謝非活性化条件；128 µg/mL 以上の濃度では、培地に検体の沈殿が生じた。

突然変異実験の溶媒対照におけるコロニー形成能は 52.6%および 67.0%であり、コロニー形成能は良好であった。

陰性対照および溶媒対照における変異体出現頻度はいずれも正常な範囲内であった。陽性対照のメタンスルホン酸エチルは、いずれの試験においても突然変異コロニーの顕著な増加を示した。

検体処理群では、256 µg/mL において細胞増殖速度の顕著な低下が観察された。検体処理による変異コロニー出現頻度の有意な上昇は認められなかった。

代謝活性化条件；128 µg/mL 以上の濃度では、培地に検体の沈殿が生じた。

突然変異実験の溶媒対照におけるコロニー形成能は 50.0%および 64.8%であり、コロニー形成能は良好であった。

陰性対照および溶媒対照における変異体出現頻度はいずれも正常な範囲内であった。陽性対照のジメチルベンズアントラセンは、いずれの試験においても突然変異コロニーの顕著な増加を示した。

検体処理による変異コロニー出現頻度の有意な上昇は認められなかった。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で変異原性は認められなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 試験結果

	薬剤	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S9 mix	暴露直後の 細胞生存率*	発現期間中の 細胞増殖速度*	コロニー 形成能(%)	変異 コロニー数	変異の 頻度 (/10 <sup>6</sup> )
1 回目 試験	陰性対照	0	-	90.4	168.0	48.3	7.0	6.1
	溶媒対照	0		100.0	100.0	52.6	3.5	2.8
	陽性対照 EMS	900		93.8	75.2	36.8	219.0	265.6*
	検体	4		71.0	111.3	52.2	5.0	4.4
		8		78.9	96.9	47.0	7.5	7.1
		16		83.2	60.4	64.7	6.0	3.9
		32		84.1	91.0	44.9	7.0	6.5
		64		77.8	93.4	55.5	4.0	3.1
		128		93.8	72.5	51.7	1.5	1.3
256	100.4	21.7	64.4	0.5	0.4			
2 回目 試験	陰性対照	0	-	97.2	122.2	53.1	10.5	8.4
	溶媒対照	0		100.0	100.0	67.0	9.5	6.2
	陽性対照 EMS	900		86.8	118.7	45.5	492.5	451.2*
	検体	4		97.5	103.2	53.3	9.5	7.4
		8		97.1	69.9	59.4	6.5	4.5
		16		108.5	65.7	49.7	7.5	6.4
		32		97.5	69.3	48.0	5.5	4.7
		64		90.6	83.1	58.4	6.5	4.4
		128		99.0	66.6	71.6	17.5	10.1
256	87.4	33.9	63.7	1.0	0.8			
1 回目 試験	陰性対照	0	+	101.5	98.1	56.5	6.5	5.6
	溶媒対照	0		100.0	100.0	50.0	4.0	3.4
	陽性対照 DMBA	20		45.8	51.5	76.0	163.5	88.6*
	検体	4		90.0	181.7	52.3	7.5	6.1
		8		122.3	68.3	65.3	7.0	4.6
		16		105.8	64.5	54.4	6.5	5.6
		32		111.3	134.4	62.6	8.5	5.6
		64		119.6	67.5	49.4	5.5	4.4
		128		94.5	72.5	59.2	9.5	6.8
256	104.1	79.9	<sup>b</sup>	8.5	<sup>b</sup>			
2 回目 試験	陰性対照	0	+	112.1	75.2	69.8	6.0	4.3
	溶媒対照	0		100.0	100.0	64.8	9.5	5.9
	陽性対照 DMBA	20		121.2	72.1	64.2	171.5	112.7*
	検体	4		110.4	91.9	67.7	15.5	9.9
		8		104.7	72.0	63.1	9.0	6.3
		16		88.9	84.8	65.2	12.5	8.1
		32		95.3	94.5	38.3	9.0	6.3
		64		94.2	59.3	62.4	10.0	6.6
		128		109.8	71.7	57.0	7.0	4.8
256	101.4	60.7	52.2	8.5	6.7			

128 $\mu\text{g/mL}$ 以上の濃度で検体の沈殿が認められた。

表中の数字は2反復の平均

a: 対照群に対する割合(%)

b: コンタミのため測定できず

EMS: メタンサルホン酸エチル

DMBA: ジメチルベンズアントラセン

\*:  $p < 0.05$  (Dunnett Test、変異の頻度についてのみ実施)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## 10. 生体機能への影響

### (1) フルオピラムにおける薬理試験

(毒性資料 No.26)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2009年

検体純度： %

用量設定根拠：

#### マウスの一般症状および行動に及ぼす影響

供試動物： Crlj:CD1(ICR)系 SPF マウス 1群雌雄各4匹  
4週齢、体重；雄 22.8～29.4g、雌 17.7～22.0g

試験方法： 検体を2% Cremophor EL 溶液に懸濁し、0(対照群)、51.2、128、320、800 および 2000mg/kg の用量で4～6時間絶食したマウスに強制経口投与した。投与容量は 10mL/kg とした。検体投与前、検体投与後 30、60、120、240、360 分および 24 時間に Irwin の多次元観察法に従い一般症状および行動を観察した。

結果： 次表に示したとおり、雄では 800mg/kg 以上で正向反射の低下および握力の低下が認められ、雌では 128mg/kg 以上で正向反射の低下が認められた。いずれも投与後 30 分から発現し、24 時間後には消失した。マウスの一般状態および行動に対する無作用量は雄 320mg/kg、雌 51.2mg/kg と考えられた。

表 マウスの一般症状および行動に及ぼす影響試験で認められた症状

性	雄						雌					
	0	51.2	128	320	800	2000	0	51.2	128	320	800	2000
検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
正向反射の低下	0	0	0	0	4	4	0	0	1	3	4	4
握力の低下	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

#### マウスの抗痙攣作用に及ぼす影響

供試動物： Crlj:CD1(ICR)系 SPF マウス 1群雌雄各6匹  
5週齢、体重；雄 26.2~31.0g、雌 21.8~27.9g

試験方法： 検体を2% Cremophor EL 溶液に懸濁し、0(対照群)、51.2(雌のみ)、128、320、800および2000mg/kgの用量で3~5時間絶食したマウスに強制経口投与した。投与容量は10mL/kgとした。投与30分後に両角膜より電撃痙攣装置を用いて100V、50mAの電流を0.2秒間通電した。電撃刺激後に発現する強直性屈曲痙攣、強直性伸展痙攣、間代性痙攣および死亡の有無を観察した。

結果： 次表に示したとおり、2000mg/kg群では、雌雄ともに強直性伸展痙攣の発現例数に統計学的に有意な低値が認められた。800mg/kg群では、雄の強直性伸展痙攣の発現例数に低値傾向が、雌の強直性伸展痙攣の発現例数に有意な低値が認められた。320mg/kg以下の投与群では、雌雄とも強直性屈曲痙攣、強直性伸展痙攣、間代性痙攣および死亡の発現例数に投与の影響はみられなかった。従って、検体のマウスの抗痙攣作用に対する無作用量は雌雄とも320mg/kgと考えられた。

表 マウスの抗痙攣作用

性	雄					雌						
	用量 (mg/kg)	0	128	320	800	2000	0	51.2	128	320	800	2000
検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
強直性屈曲痙攣	6	6	5	6	6	6	6	6	6	6	6	6
強直性伸展痙攣	6	6	4	2	0**	6	6	6	6	1*	1*	6
間代性痙攣	5	6	4	6	4	6	6	6	6	6	6	6
死亡	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01 (Fisher's exact test)

#### ウサギの呼吸・循環器系に及ぼす影響

供試動物： New Zealand White 系雌ウサギ 1群雌各3匹  
13~17週齢、体重 2.83~3.48kg

試験方法： ウサギにペントバルビタールナトリウム 25mg/kg を左耳静脈内投与し麻酔した。検体を2% Cremophor EL 溶液に懸濁し、十二指腸内に挿入したカニューレより0(対照群)、1000および2000mg/kgの用量で投与した。投与容量は5mL/kgとした。0および1000mg/kgの投与群は、同一個体に低用量から高用量の順に投与した。検体投与前、検体投与後10、30、60、90および120分後に呼吸、血圧、心拍数、総頸動脈血流量および心電図を測定した。動物は絶食させなかった。

結果： 対照群では、溶媒の投与により呼吸数、血圧、心拍数、総頸動脈血流量および心電図に明確な変化はみられなかった。1000 mg/kg群では、心拍数、収縮期血圧および心電図のQTcの各投与前値からの変化率に、対照群と比べ統計学的に有意な低値が認められたが、これらの低値は2000mg/kg群では認められておらず、偶発的な事象と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

平均血圧、拡張期血圧、総頸動脈血流量、呼吸数並びに心電図の P-R 間隔、QRS 間隔および QRS 高への明確な影響はみられなかった。

2000 mg/kg 群では、対照群と比べ心電図の QTc 値に統計学的に有意な高値が認められたが、投与前値からの変化率での比較では有意差がみられておらず、主に投与前値の絶対値の差を反映したものと推察され、生理的な意義は低いと考えられた。その他の項目に明確な影響はみられなかった。

以上より、検体のウサギの呼吸・循環器系への無作用量は 2000mg/kg 以上と考えられた。

#### ラットの尿および電解質排泄に及ぼす影響

供試動物： CrI:CD(SD)系 SPF 雌ラット 1 群雌各 6 匹  
8 週齢、体重 185~207g

試験方法： 検体を 2% Cremophor EL 溶液に懸濁し、0(対照群)、51.2、128、320、800 および 2000mg/kg の用量で一夜絶食したラットに強制経口投与した。投与容量は 10mL/kg とした。その後直ちに 37°C に加温した生理食塩水を 25mL/kg の割合で経口的に負荷し、6 時間後に採尿し、尿量、pH、電解質を検査した。

結果： 次表に示したとおり、128~800mg/kg 群で尿量の有意な増加が認められた。2000mg/kg 群では尿量の有意な増加はみられず用量との関連性が明確ではないものの、この尿量の増加は投与の影響と判断した。320mg/kg 群において pH の有意な高値が認められたが、これは測定値の個体間のばらつきの少なさに由来する偶発的な有意差と考えられた。また同群ではカリウム排泄量の高値が認められ、尿量の増加に関連したものと考えられた。検体の雌ラットの尿および電解質排泄に対する無作用量は 51.2mg/kg と考えられた。

表 ラットの尿および電解質排泄に及ぼす影響試験で有意差の認められた項目

性	雌						
	用量 (mg/kg)	0	51.2	128	320	800	2000
尿量 (mL/6hr/100g)		2.13	3.06	3.06 <sup>#</sup>	5.55 <sup>##</sup>	3.53 <sup>#</sup>	2.70
pH		6.3	6.7	6.8	6.6 <sup>#</sup>	6.3	6.2
K <sup>+</sup> (mEq/6hr/100g)		0.092	0.099	0.087	0.152 <sup>**</sup>	0.108	0.106

\*\* : p<0.01 (Dunnett's test)

# : p<0.05、## : p<0.01 (Mann-Whitney U-test)

以上より、検体はマウスの一般症状および行動、抗痙攣作用、並びにラットの腎機能に影響を与え、それぞれに対する無作用量は、51.2mg/kg、320mg/kg、並びに 51.2mg/kg であった。また、ウサギの十二指腸内投与による呼吸・循環器系に対しては影響を示さず、無作用量は 2000mg/kg 以上と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 生体機能への影響に関する試験の総括表

項目	供試動物	1群 当り 動物数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要	
中枢 神経系	一般症状 および 行動	マウス	♂♀4	経口	0, 51.2, 128, 320, 800, 2000	♂ 320 ♀ 51.2	♂ 800 ♀ 128	・正向反射の低下 ・握力の低下
	抗痙攣	マウス	♂♀6	経口	♂ 0, 128, 320, 800, 2000 ♀ 0, 51.2, 128, 320, 800, 2000	♂♀ 320	♂♀ 800	・強直性伸展痙攣 の発現低下
呼吸・循環器系	ウサギ	♀ 3	十二 指腸内	0, 1000, 2000	♀ ≥2000	—	影響なし	
尿および 電解質排泄	ラット	♀ 6	経口	0, 51.2, 128, 320, 800, 2000	♀ 51.2	♀ 128	・尿量増加 ・K <sup>+</sup> 排泄量高値	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## 11. その他

(1)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(1)-1

(毒性資料 No.27)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2008年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(1)-2

(毒性資料 No.28)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2008年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(1)-3

(毒性資料 No.36)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2011年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(1)-4

(毒性資料 No.37)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2012年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(1)-5

(毒性資料 No.38)

試験実施機関：  
報告書作成年：2013年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(1)-6

(毒性資料 No.39)

試験実施機関：  
報告書作成年：2013年



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(2)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(2)-1

(毒性資料 No.29)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2008年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(2)-2

(毒性資料 No.30)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2008年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。